

帕夫林通过抑制 NLRP3 形成减轻博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化

许容容¹,孔 辉²,徐 健²,陈雪松²,朱晓莉¹,解卫平^{2*}

(¹东南大学附属中大医院呼吸内科,江苏 南京 210009;²南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨帕夫林(paeoniflorin,PA)对博莱霉素(bleomycin,BLM)诱导的小鼠肺纤维化的影响及其作用机制。方法:将 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 4 组:对照组(sham operation,SH)、对照组+帕夫林组(SH+PA)、模型组(BLM)、模型组+帕夫林(BLM+PA);气管内滴注博莱霉素(2 mg/kg)建立小鼠肺纤维化模型,对照组气管内滴注生理盐水,从造模当天开始,SH+PA、BLM+PA 组小鼠每日给予 50 mg/kg 帕夫林灌胃,SH、BLM 组小鼠每日给予等量生理盐水灌胃;在造模第 14 天处死小鼠,留取小鼠肺组织。记录各组小鼠体重变化;统计各组小鼠生存率;HE 染色法观察小鼠肺组织纤维化程度;肺组织匀浆羟脯氨酸定量评估肺组织胶原蛋白含量;ELISA 法测定肺组织匀浆中白介素(interleukin,IL)-18、IL-1 β 含量;Western blot 法检测肺组织匀浆中 NLRP3、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1,TGF- β 1)表达水平。结果:与对照组相比,帕夫林可显著提高小鼠生存率;经帕夫林治疗 14 d 后,小鼠肺组织纤维化病变较模型组减轻;小鼠肺组织胶原蛋白含量显著降低($P<0.05$);小鼠外周血及肺组织中 IL-18、IL-1 β 含量较模型组相比明显减少($P<0.05$);与模型组相比,NLRP3 蛋白水平以及 TGF- β 1 蛋白表达水平显著下调($P<0.05$)。结论:帕夫林可减轻博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化程度,其作用可能是通过抑制 NLRP3 炎症小体的形成发挥的。

[关键词] 帕夫林;肺纤维化;NLRP3;博莱霉素

[中图分类号] R563

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)07-799-05

doi:10.7655/NYDXBNS20170703

Paeoniflorin attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by suppressing NLRP3 inflammasome formation

Xu Rongrong¹, Kong Hui², Xu Jiang², Chen Xuesong², Zhu Xiaoli¹, Xie Weiping^{2*}

(¹Department of Respiratory Medicine, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009; ²Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutics effect and the potential mechanism of paeoniflorin on the bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. **Methods:** Sixty adult male SPF C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: the control group (Sham operation, SH), the control+paeoniflorin group (SH+PA), the bleomycin group (BLM) and the bleomycin+paeoniflorin group (BLM+PA). From the day of operation, the mice of the SH+PA and BLM+PA groups were treated with paeoniflorin intragastrically (50 mg/kg, daily) while the mice of the SH and BLM groups were given the same volume of normal saline. The model of pulmonary fibrosis was established through intratracheally instillation with bleomycin (2 mg/kg) except for the control group, in which normal saline was used. All the samples were sacrificed on the day 14 after operation, and the change of body weight and mortality rates of each group were analyzed. The pathological section of lung tissues were harvested for hematoxylin and eosin stain. Collagen deposition in the lung was determined by measuring the total hydroxyproline content. ELISA was performed to analyze the level of IL-18 and IL-1 β in the lung homogenates. The levels of NLRP3 and TGF- β 1 in the lung were detected by Western blotting. **Results:** Paeoniflorin significantly increased the survival rate and attenuated the collagen deposition in the bleomycin-induced pulmonary fibrosis mouse model compared with the control group ($P<0.05$). The IL-18 and IL-1 β in the lung homogenates were decreased notably after administration of paeoniflorin, when compared to the control group ($P<0.05$). The expression of NLRP3 and TGF- β 1 were down

[基金项目] 国家自然科学基金(81273571);江苏省呼吸病临床医学研究中心(BL2012012)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wpxie@njmu.edu.cn

regulated significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Paeoniflorin may attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by suppressing NLRP3 inflammasome formation.

[Key words] paeoniflorin; pulmonary fibrosis; NLRP3; bleomycin

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(07): 799-803]

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是多种弥漫性间质性肺疾病的共同病理改变,以特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)最为典型,IPF是一种原因未明的弥漫性肺疾病,以慢性进行性肺实质损害和纤维化为主要特征,最终导致肺脏结构和功能的严重破坏。随着对肺纤维化的病理学研究的深入,目前IPF专指病理组织学表现为寻常型间质性肺炎(usual interstitial pneumonia, UIP)的原因不明的间质性肺炎^[1]。IPF严重危害患者的健康和生存,且尚无有效的治疗手段^[2];确诊后平均生存期仅3~5年,5年存活率仅30%~50%。以往研究认为IPF是一种慢性炎症性疾病,但临床研究表明,单纯应用抗炎药如糖皮质激素的效果很差^[3]。

帕夫林又称白芍总苷,是从中国传统中药白芍中提取的中药单体,具有多种药理学活性^[4]。有研究表明帕夫林有免疫调节、抗炎等作用,对治疗类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、肝纤维化有独特功效,是风湿性疾病的基础用药^[5-8]。但帕夫林在治疗特发性肺纤维化中的研究报道较少,故本研究旨在探讨帕夫林对博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化的作用及其相关机制,为特发性肺纤维化的治疗提供新的策略。

1 材料和方法

1.1 材料

帕夫林购自南京泽朗医药科技有限公司;盐酸博莱霉素购自浙江海正药业股份有限公司;60只SPF级6~8周(21~25 g)雄性C57BL/6小鼠购自常州卡文斯实验动物有限公司;羟脯氨酸(HYP)测定试剂盒(碱水解法)购自南京建成生物工程研究所;小鼠IL-1 β 、IL-18 ELISA检测试剂盒(R&D公司,美国);兔抗NLRP3抗体(Abcam公司,美国);兔抗TGF- β 1抗体(Cell Signaling公司,美国);GAPDH抗体(Proteintech公司,美国);辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(南京巴傲得公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠肺纤维化模型的构建

小鼠称重,常规予以10%水合氯醛(3 mg/kg)腹

腔注射麻醉;打开光源经小鼠颈部透照,左手持一弯头镊将小鼠舌头稍拖出,调整小鼠体位,观察到小鼠声带声门随呼吸闪烁,用静脉留置针(软管)插入气管,观察小鼠呼吸,确认无梗阻后用微量加样器按2 mg/kg吸取母液浓度为2 mg/mL预先配制好的博莱霉素溶液,对照组给予相同剂量生理盐水,均补足液体量至40 μ L,快速推入气管后拔出,静脉留置针留在气管内,倒立小鼠数分钟并旋转数次使得液体在双肺均匀分布。

1.2.2 术后给药

60只SPF级6~8周(21~25 g)雄性C57BL/6小鼠随机分为4组,每组15只小鼠。模型组+帕夫林组(BLM+PA)及对照组+帕夫林组(SH+PA)小鼠每日以50 mg/(kg·d)灌胃(参考文献选择PA浓度)^[9-11],预先用生理盐水将帕夫林配置成5 mg/mL母液;对照组(SH)及模型组(BLM)小鼠每日予以等量生理盐水灌胃,直至造模后第14天。

1.2.3 小鼠一般状态、体重及生存率评估

从造模开始每日记录各组小鼠体重变化,观察各组小鼠精神状态及生存情况,计算各组生存率并绘制生存曲线。

1.2.4 小鼠肺组织HE染色观察肺纤维化程度

第14天麻醉动物,摘眼球取血并处死小鼠后,取出肺脏解剖观察肺大体标本。取小鼠左肺下叶新鲜组织,4%多聚甲醛固定24 h,酒精梯度脱水、脱蜡后石蜡包埋,制作厚度为4 μ m的切片,HE染色后光镜下观察肺组织病理改变。

1.2.5 小鼠肺组织HYP含量测定

HYP在氧化剂的作用下所产生的氧化产物和二甲氨基苯甲醛作用呈现紫红色,根据其呈色的深浅并和标准管进行光电比色(吸光度大小比较)即可计算出HYP含量。准确称取整个右肺下叶组织湿重并放入试管内,匀浆后按照试剂盒操作步骤进行实验,HYP含量(μ g/mg湿重)=(待测管吸光度值-空白管吸光度值)/(标准管吸光度值-空白管吸光度值) \times 标准管HYP含量(5 μ g/mL) \times 水解液总体积(5 mL)/肺组织湿重(mg),计算每组小鼠肺组织中HYP含量的均值和标准差。

1.2.6 ELISA 检测小鼠肺组织匀浆 IL-18、IL-1 β 水平

精确称取小鼠肺组织湿重, 匀浆后使用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量; 之后按照 ELISA 试剂盒操作说明, 分别将标准品和组织样本加入相应孔中(100 μ L/孔), 封板胶纸封住反应孔, 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 90 min; 洗板 5 次, 除了空白孔外均加入生物素化抗体工作液(100 μ L/孔), 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 60 min; 洗板 5 次后加入酶结合物工作液(100 μ L/孔), 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min; 洗板 5 次后加入显色底物 100 μ L/孔, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min, 加入终止液 100 μ L/孔, 混匀后即刻测量在波长 450 nm 处的吸光度值。肺组织匀浆中 IL-18、IL-1 β 含量以 pg/mg 蛋白计算。

1.2.7 Western blot 检测 NLRP3、TGF- β 1 表达水平

精确称取小鼠肺组织湿重, 匀浆器匀浆后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 冰上裂解 30 min; 于 4 $^{\circ}$ C、14 000 r/min 高速离心 20 min, 吸取上清, 加入蛋白上样缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 水浴锅中煮沸 8 min; BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量; 蛋白上样量为 10 μ L, 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 300 mA 湿转, 将蛋白转移至 PVDF 膜; 5% 胎牛血清(BSA)室温封闭 1 h, 再分别加入 NLRP3、TGF- β 1 抗体(1:1 000), GAPDH 抗体(1:5 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min; 加入 HRP 标记的二抗(1:10 000), 室温孵育 1 h; TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 室温孵育 1 h; TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min; 上机曝光显像, Image J 分析结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行分析, 数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 采用单因素方差分析, 组间两两比较用 LSD 检验; 应用 Kaplan-Meier 曲线计算生存率, 应用 Log-rank 检验比较不同组的生存曲线, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠生存状态及体重变化

各组小鼠造模前生存状态良好, 活泼好动, 饮食正常; 造模后, BLM 组小鼠出现精神萎靡、活动少、饮食差、体重减轻等表现; SH 组及 SH+PA 组生存状态较造模前变化不大; BLM+PA 组小鼠精神稍萎靡、活动较少、体重减轻, 整体情况较 BLM 组略好(图 1)。

2.2 各组小鼠生存率统计

统计各组小鼠生存率, 并绘制生存曲线, 同时行 Log-rank 方法比较不同组之间的生存率, 结果显示, SH 组无动物死亡, 造模后 14 d, SH 组及 SH+PA 组

小鼠生存良好, BLM 组小鼠死亡率最高, 相比 SH 组, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图 2); 给予帕夫林干预后, 小鼠生存率显著提高, 相比 BLM 组, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图 2), 结果表明, 帕夫林可显著提高博莱霉素诱导的肺纤维化小鼠的生存率。

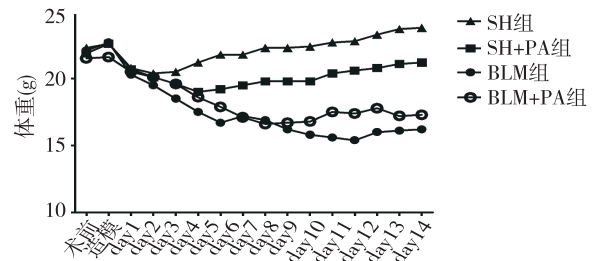
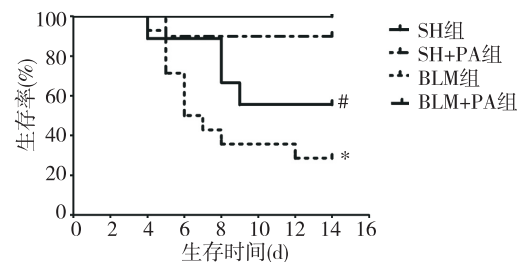


图 1 各组小鼠体重变化

Figure 1 Weight change of mice in each group



与 SH 组比较, $^{\#}P<0.05$; 与 BLM 组比较, $^*P<0.05$ ($n=15$)。

图 2 各组小鼠生存率统计

Figure 2 Survival rates of mice in each group

2.3 HE 染色观察小鼠肺纤维化程度

由图 3 可见, SH 组及 SH+PA 组小鼠肺泡结构基本正常, 未见纤维化; BLM 组小鼠肺组织结构破坏严重, 肺泡壁和肺泡间隔增厚明显, 肺组织纤维增殖明显; BLM+PA 组小鼠肺组织结构破坏较 BLM 组为轻, 肺泡壁和肺泡间隔一定程度上增厚, 肺组织纤维增殖较 BLM 组明显减少。

2.4 小鼠肺组织 HYP 含量测定

各组小鼠肺组织 HYP 含量如图 4 所示: SH 组与 SH+PA 组小鼠肺组织 HYP 含量差异无统计学意义($P>0.05$); BLM 组小鼠肺组织 HYP 含量明显增多, 与 SH 组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); 加入帕夫林干预后, 小鼠肺组织 HYP 含量显著减少, 与 BLM 组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); 表明帕夫林可以减少博莱霉素诱导的肺纤维化小鼠肺组织中的胶原沉淀。

2.5 小鼠肺组织匀浆 IL-18、IL-1 β 表达水平

通过 ELISA 法检测各组小鼠肺组织中 IL-18、IL-1 β 水平, 结果提示: SH 组与 SH+PA 组小鼠肺组织匀浆中的 IL-18、IL-1 β 水平无明显差异($P>0.05$);

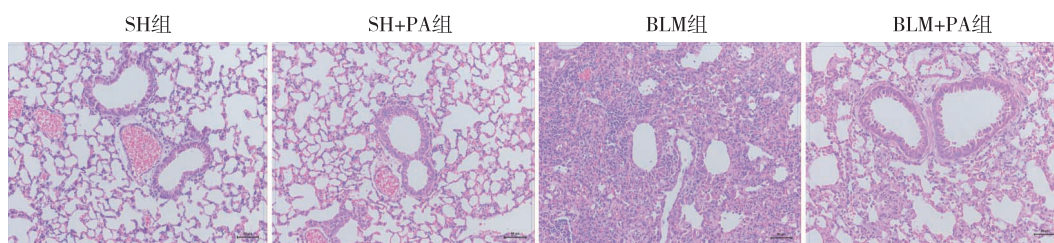
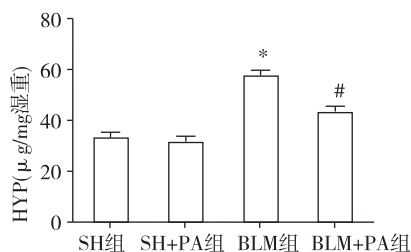


图3 小鼠肺组织 HE 染色(×200)

Figure 3 HE staining of lung tissues in mice (×200)



与SH组比较,* $P < 0.05$;与BLM组比较,# $P < 0.05$ ($n = 15$)。

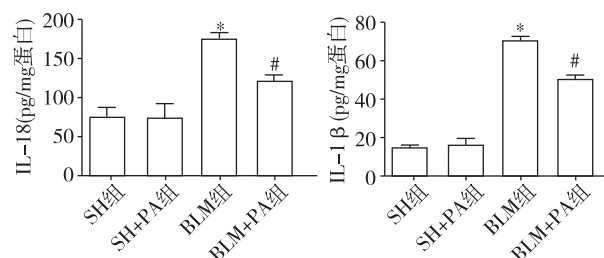
图4 小鼠肺组织 HYP 含量测定

Figure 4 Hydroxyproline content in lung tissues of mice

相比SH组, BLM组小鼠肺组织中IL-18、IL-1 β 表达水平显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图5); 当小鼠给予帕夫林治疗后, 小鼠肺组织匀浆中IL-18、IL-1 β 水平均显著下降, 与BLM组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图5), 提示帕夫林可以减少博莱霉素诱导的肺纤维化小鼠肺组织炎症因子IL-18、IL-1 β 的表达水平。

2.6 帕夫林对小鼠肺组织 NLRP3、TGF- β 1 蛋白的影响

通过 Western blot 法检测各组小鼠肺组织匀浆中 NLRP3、TGF- β 1 蛋白表达水平, 结果表明: BLM 可以显著上调小鼠肺组织中的 NLRP3 水平, 相比

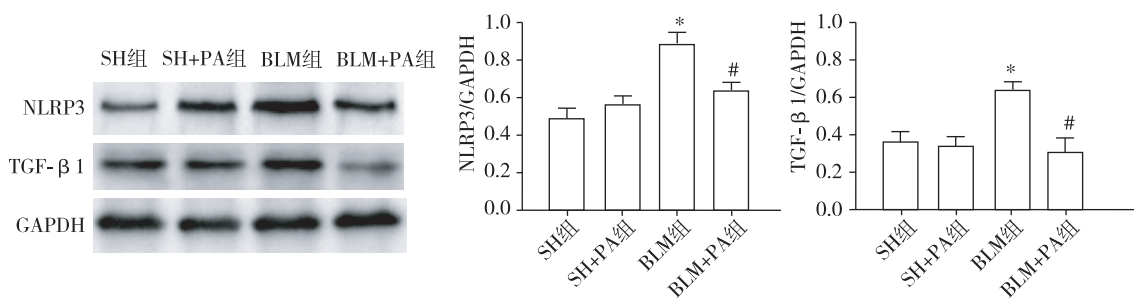


与SH组比较,* $P < 0.05$;与BLM组比较,# $P < 0.05$ ($n = 15$)。

图5 帕夫林对肺纤维化小鼠肺组织中炎症因子的影响

Figure 5 Effects of paeoniflorin on inflammatory factors in lung tissues of mice with pulmonary fibrosis

SH组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图6); 给予帕夫林治疗后, 可显著下调 NLRP3 的表达水平, 相比 BLM组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与此同时, Western blot 结果表明, BLM组 TGF- β 1 蛋白表达水平明显升高, 相对对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图6); 而经过帕夫林治疗后, TGF- β 1 蛋白表达水平显著下调, 相比 BLM组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图6), 结果提示帕夫林可减少 BLM 诱导的小鼠肺纤维化模型肺组织中胶原蛋白的沉淀, 减轻小鼠肺纤维化程度。



与SH组比较,* $P < 0.05$;与BLM组比较,# $P < 0.05$ ($n = 15$)。

图6 帕夫林对肺纤维化小鼠肺组织中 NLRP3、TGF- β 1 蛋白的影响

Figure 6 Effects of paeoniflorin on NLRP3 and TGF- β 1 protein in lung tissues of mice with pulmonary fibrosis

3 讨论

本研究报道了帕夫林可以减轻博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化程度, 减少小鼠肺组织胶原沉淀,

其可能是通过影响 NLRP3 炎症小体形成来发挥作用的。研究结果表明帕夫林可能在治疗肺纤维化中发挥重要作用, NLRP3 炎症小体可能是一个新的治疗靶点。

帕夫林是传统医学广泛使用的中草药,有研究报道帕夫林可以通过上调 Smad7 因子水平影响 Smad 依赖的信号通路,降低转录因子 Snail 的表达,抑制 TGF- β 1 介导的肺泡上皮细胞向间充质转化(EMT)过程,进而减轻小鼠肺纤维化程度^[12]。帕夫林还可以通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路的激活进而减少胶原蛋白 I 的合成,以及增加 γ 干扰素(IFN- γ)的表达减轻博莱霉素诱导的小鼠纤维化^[11]。与此同时,帕夫林可以通过维持骨形态发生蛋白-7 mRNA 的表达以及抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路阻滞肾间质的 EMT 效应,从而预防肾间质纤维化的发生^[10]。本研究结果表明,帕夫林可以显著减轻博莱霉素诱导的肺纤维化,降低炎症小体 NLRP3 的表达,抑制炎症介质 IL-18、IL-1 β 的表达,炎症小体 NLRP3 可能是帕夫林作用的靶点。

肺纤维化是以成纤维细胞增殖及大量细胞外基质聚集并伴有炎性损伤、组织结构破坏为特征的肺疾病;损伤修复导致肺组织结构异常,是严重影响人体肺功能的间质性肺疾病^[1,13]。炎症过程以及促纤维化因子在肺纤维化发生发展过程中发挥重要作用^[14]。炎症小体是一种存在于细胞浆中的多蛋白复合物,主要包括 NLRP1、NLRP3、NLRC4、AIM2 4 种炎症小体。博莱霉素诱导的肺纤维化模型是模拟肺纤维化过程的经典模型^[15];博莱霉素诱导的细胞损伤导致炎症小体激活,激活的炎症小体进一步剪切 IL-1 炎症因子家族的 IL-18、IL-1 β 前体(pro-IL-18、pro-IL-1 β),使其转变为成熟体,IL-1 β 进一步激活肺上皮细胞中的 IL-1R/MyD88 复合体,诱导中性粒细胞和淋巴细胞聚集以及成纤维细胞的激活;肺成纤维细胞的激活导致金属蛋白酶/基质金属蛋白酶抑制因子比例失调,促进基质金属蛋白酶抑制因子和成纤维细胞增殖,形成胶原沉淀,最终形成肺纤维化^[16-17]。抑制炎症小体的活化通路的激活和(或)炎症小体介导的细胞因子的表达可以减少纤维化的程度^[18];其中 NLRP3 炎症小体具有广泛免疫调节和抗微生物作用,作为固有免疫的重要组分在机体免疫反应和疾病发生过程中具有重要作用^[19];NLRP3 的激活在肺纤维化过程中发挥重要作用^[20]。本研究结果表明,帕夫林可能是通过作用 NLRP3—IL-1 β —TGF- β 1 信号通路影响小鼠肺纤维化过程,IL-1 β 、TGF- β 1 都是重要的促纤维化的因子^[21],帕夫林通过降低 NLRP3 的表达,进而抑制 IL-1 β 的活化,最终降低 TGF- β 1 的表达,从而减轻博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化。

肺纤维化预后很差,肺纤维化导致的呼吸衰竭以及严重的并发症是病情恶化的主要原因,目前治

疗手段相对贫乏,近年来有研究表明吡非尼酮以及尼达尼布对延缓肺纤维化患者肺功能的恶化有效,且安全性较高^[22-24]。吡非尼酮已经有国内企业生产,但价格较贵,尼达尼布尚未在国内上市,而本研究结果表明传统中药帕夫林对肺纤维化有一定疗效,NLRP3 炎症小体可能是其作用的靶点,帕夫林有望成为肺纤维化患者治疗的新选择。

[参考文献]

- [1] Sgalla G, Biffi A, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis, epidemiology and natural history[J]. *Respirology*, 2016, 21(3): 427-437
- [2] Harari S, Caminati A. Idiopathic pulmonary fibrosis: from clinical trials to real-life experiences[J]. *Eur Respir Rev*, 2015, 24(137): 420-427
- [3] Hutchinson J, Fogarty A, Hubbard R, et al. Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review[J]. *Eur Respir J*, 2015, 46(3): 795-806
- [4] Li X, Shen J, Zhong Z, et al. Paeoniflorin: a monomer from traditional Chinese medical herb ameliorates *Schistosoma japonicum* egg-induced hepatic fibrosis in mice [J]. *J Parasitol*, 2009, 95(6): 1520-1524
- [5] Zhao Y, Ma X, Wang J, et al. Paeoniflorin alleviates liver fibrosis by inhibiting HIF-1 α through mTOR-dependent pathway[J]. *Fitoterapia*, 2014, 99: 318-327
- [6] Chen X, Liu C, Lu Y, et al. Paeoniflorin regulates macrophage activation in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2012, 12: 254
- [7] Li X, Shen J, Zhong Z, et al. Paeoniflorin ameliorates schistosomiasis liver fibrosis through regulating IL-13 and its signalling molecules in mice[J]. *Parasitology*, 2010, 137(8): 1213-1225
- [8] Jia Z, He J. Paeoniflorin ameliorates rheumatoid arthritis in rat models through oxidative stress, inflammation and cyclooxygenase 2[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(2): 655-659
- [9] Wang C, Yuan J, Wu HX, et al. Paeoniflorin inhibits inflammatory responses in mice with allergic contact dermatitis by regulating the balance between inflammatory and anti-inflammatory cytokines[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(12): 1035-1044
- [10] Zeng J, Dou Y, Guo J, et al. Paeoniflorin of *Paeonia lactiflora* prevents renal interstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction in mice[J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(8/9): 753-759
- [11] Ji Y, Wang T, Wei ZF, et al. Paeoniflorin, the main active constituent of *Paeonia lactiflora* Roots, attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by suppressing the

(下转第 841 页)

- [5] Yadirgi G, Leinster V, Acquati S, et al. Conditional activation of Bmi1 expression regulates self-renewal, apoptosis, and differentiation of neural stem/progenitor cells in vitro and in vivo[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(4): 700-712
- [6] Zhou Y, Zhang L, Pan H, et al. Bmi1 essentially mediates podocalyxin-enhanced Cisplatin chemoresistance in oral tongue squamous cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123208
- [7] Ferretti R, Bhutkar A, Mcnamara MC, et al. BMI1 induces an invasive signature in melanoma that promotes metastasis and chemoresistance[J]. *Genes Dev*, 2016, 30(1): 18-33
- [8] Benard A, Goossens-Beumer IJ, Van Hoesel AQ, et al. Prognostic value of polycomb proteins EZH2, BMI1 and SUZ12 and histone modification H3K27me3 in colorectal cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108265
- [9] 魏子程, 张 玮, 陈 胜, 等. Bmi-1 在舌鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *实用口腔医学杂志*, 2013, 29(5): 660-663
- [10] 汪 瀚, 李中武, 朱玉敏, 等. Bmi1 基因沉默对人舌鳞癌细胞生物学功能的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(1): 39-45
- [11] Li Z, Wang Y, Yuan C, et al. Oncogenic roles of Bmi1 and its therapeutic inhibition by histone deacetylase inhibitor in tongue cancer[J]. *Lab Invest*, 2014, 94(12): 1431-1445
- [12] Mayr C, Wagner A, Loeffelberger M, et al. The BMI1 inhibitor PTC-209 is a potential compound to halt cellular growth in biliary tract cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1): 745-758
- [13] Kreso A, Van Galen P, Pedley NM, et al. Self-renewal as a therapeutic target in human colorectal cancer[J]. *Nat Med*, 2014, 20(1): 29-36
- [14] Yong KJ, Basseres DS, Welner RS, et al. Targeted BMI1 inhibition impairs tumor growth in lung adenocarcinomas with low CEBP α expression[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(350): 350ra104
- [15] Meng X, Wang Y, Zheng X, et al. shRNA-mediated knockdown of Bmi-1 inhibit lung adenocarcinoma cell migration and metastasis[J]. *Lung Cancer*, 2012, 77(1): 24-30
- [16] Bolomsky A, Schlangen K, Schreiner W, et al. Targeting of BMI-1 with PTC-209 shows potent anti-myeloma activity and impairs the tumour microenvironment[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9: 17
- [17] Wicha MS. Targeting self-renewal, an Achilles' heel of cancer stem cells[J]. *Nat Med*, 2014, 20(1): 14-15
- [18] Siddique HR, Saleem M. Role of BMI1, a stem cell factor, in cancer recurrence and chemoresistance: preclinical and clinical evidences[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(3): 372-378
- [收稿日期] 2016-10-20

(上接第 803 页)

- synthesis of type I collagen [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(3): 825-832
- [12] Ji Y, Dou YN, Zhao QW, et al. Paeoniflorin suppresses TGF- β mediated epithelial-mesenchymal transition in pulmonary fibrosis through a Smad-dependent pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(6): 794-804
- [13] Martin MD, Chung JH, Kanne JP. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *J Thorac Imaging*, 2016, 31(3): 127-139
- [14] Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(7): 1339-1350
- [15] Smith RE, Strieter RM, Phan SH, et al. C-C chemokines: novel mediators of the profibrotic inflammatory response to bleomycin challenge[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1996, 15(6): 693-702
- [16] Gasse P, Mary C, Guenon I, et al. IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(12): 3786-3799
- [17] Hosseini N, Cho Y, Lockey RF, et al. The role of the NLRP3 inflammasome in pulmonary diseases[J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2015, 9(4): 188-197
- [18] Rastrick J, Birrell M. The role of the inflammasome in fibrotic respiratory diseases [J]. *Minerva Med*, 2014, 105(1): 9-23
- [19] Sayan M, Mossman BT. The NLRP3 inflammasome in pathogenic particle and fibre-associated lung inflammation and diseases[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2016, 13(1): 51
- [20] Lasithiotaki I, Giannarakis I, Tsitoura E, et al. NLRP3 inflammasome expression in idiopathic pulmonary fibrosis and rheumatoid lung[J]. *Eur Respir J*, 2016, 47(3): 910-918
- [21] Rathinam VA, Vanaja SK, Fitzgerald KA. Regulation of inflammasome signaling[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(4): 333-342
- [22] King TE, Bradford WZ, Castro-Bernardini S, et al. A phase 3 trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(22): 2083-2092
- [23] Chambers DC. Nintedanib for idiopathic pulmonary fibrosis: An Asian perspective[J]. *Respirology*, 2016, 21(8): 1342-1343
- [24] Rogliani P, Calzetta L, Cavalli F, et al. Pirfenidone, nintedanib and N-acetylcysteine for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review and meta-analysis[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2016, 40: 95-103
- [收稿日期] 2016-11-08